

Aus der Gynäkologischen und Ambulatorischen Klinik
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München
Vorstand: Professor Dr. Dr. h. c. W. Baier
Arbeit unter Leitung von Prof. Dr. Meinhard Rüsse

**Über die Beeinflussung der 3β -ol-Steroiddehydrogenase-
Aktivität in Rattenovarien durch Hormone und zytoplas-
matische Substanzen**

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der veterinärmedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-
Universität München

von
Wolfgang Kleinle
aus
Griesbach/Rottal

München 1971



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Druck: N. Mühlberger, Griesbach i. Rottal

Aus der Gynäkologischen und Ambulatorischen Klinik
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München
Vorstand: Professor Dr. Dr. h. c. W. Baier
Arbeit unter Leitung von Prof. Dr. Meinhard Rüsse

**Über die Beeinflussung der 3β -ol-Steroiddehydrogenase-
Aktivität in Rattenovarien durch Hormone und zytoplas-
matische Substanzen**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der veterinärmedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-
Universität München

von
Wolfgang Kleinle
aus
Griesbach/Rottal

München 1971



Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät der Universität München

Dekan:	Prof. Dr. B. Vollmerhaus
Referent:	Prof. Dr. M. Rüsse
Korreferent:	Prof. Dr. Dr. J. Tiews

Tag der Promotion: 5. Februar 1971

Inhaltsverzeichnis

	Seite
I. Einleitung	1
II. Literatur	4
III. Material und Methode	7
IV. Ergebnisse und Diskussion	11
V. Zusammenfassung	15
VI. Summary	16
VII. Literaturverzeichnis	17

Über die Beeinflussung der 3β -ol-Steroid-dehydrogenase-Aktivität in Rattenovarien durch Hormone und zytoplasmatische Substanzen

I. Einleitung

Die männlichen und weiblichen Keimdrüsenhormone des Menschen und der Tiere stehen nicht nur in ihrer physiologischen Wirkung, sondern auch in ihrem chemischen Aufbau in enger Wechselbeziehung. Sie leiten sich alle von dem gesättigten Kohlenwasserstoff Cyclopentanoperhydrophenantren (Steran) ab, und werden zusammen mit den Hormonen der Nebennierenrinde unter dem Oberbegriff der Steroidhormone zusammengefaßt.

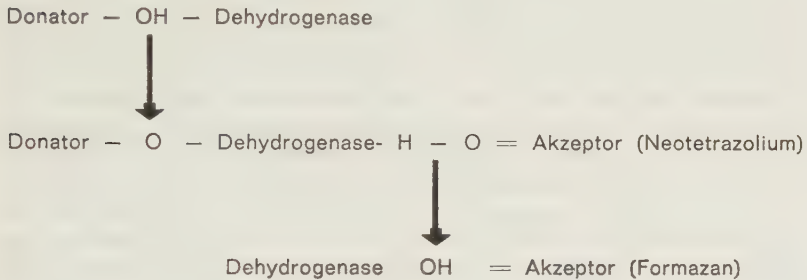
Als Bildungsstätten sind zu nennen: Leber, Nebenniere und die Gonaden. Ihre Synthese erfolgt endogen aus Acetaten zum Cholesterin, der Muttersubstanz aller bioaktiven Steroide, ein Weg, der schon seit mehreren Jahrzehnten bekannt ist und anerkannt wird. In neuerer Zeit konnte unter anderen weniger bedeutenden Bausteinen die iso-Valeriansäure ermittelt werden (Zabin und Bloch). Die Synthese der Stereoidhormone aus Acetaten ist nicht nur auf die Leber beschränkt, sondern konnte auch an isolierten Organschnitten für die Keimdrüsen nachgewiesen werden (Brady 1951). Für das Zustandekommen der entsprechenden Hormone ist die Einwirkung der zugehörigen übergeordneten Hypophysenhormone unerläßlich.

Durch Ersatz einzelner H-Gruppen am Steranring durch Hydroxyl- und Keto-Gruppen und der damit verbundenen Errichtung von Doppelbindungen, entsteht eine verwirrende Fülle von chemisch sehr ähnlichen Substanzen, welche teils in vivo, teils in vitro als Zwischen- und Endprodukte des Stereoidstoffwechsels nachgewiesen werden konnten. Die stark abweichende physiologische Wirkung chemisch sehr ähnlich gebauter Steroide setzt das Vorhandensein hochspezifizierter Fermente und Fermentsysteme voraus. Schon vor mehreren Jahrzehnten (Ercoli 1941, Mamoli 1939) entdeckte man Mikroorganismen,

z. B. *Mikrococcus dehydrogenans* und *Corynebacterium mediolanum*, welche in der Lage waren, mit Hilfe ihrer Dehydrogenasen die OH-Gruppe am C₃-Atom eines Steroidringsystems, zu einer Keto-Gruppe zu reduzieren. In der Zwischenzeit wurden weitere Mikroorganismen (*Pseudomonas testosteroni* und Hefen) entdeckt (Marcus u. Talaray 1956), welche zu ähnlichen biologischen Leistungen befähigt sind. Bei den Autoren war die Isolierung einer α - und β -Steroiddehydrogenase aus verschiedenen Geweben von Säugtieren möglich. Seither ist es gelungen, vor allem aus den am Steroidstoffwechsel beteiligten Organen (Testis, Ovar, Nebenniere, Leber und Plazenta), eine Reihe spezifischer Enzyme abzugrenzen und zum Teil zu isolieren. Besondere Bedeutung kommt hierbei den Dehydrogenasen und hier wiederum der am C₃-Atom des Steranringes angreifenden Δ 5- 3β -ol-Hydroxysteroid Dehydrogenase (3β HSD), syn. 3β -ol-Dehydrogenase, 3β -ol-Steroiddehydrogenase, welche die Δ 5- 3β -Hydroxylgruppe in eine Δ 4- 3β -Ketogruppe überführt, zu. Die Bedeutung gerade dieses Fermentes ist aus dem beigegebenen Stoffwechselschema ersichtlich. Bemerkenswert ist dabei, daß das Gestagen Progesteron (Corpus luteum-Hormon) eine zentrale Stellung bei der Bildung der Sexagene einnimmt, und daß auch die (weiblichen) Oestrogene über androgene Stufen gebildet werden, gleichviel, ob sie aus dem Lebercholesterin über das hormonell inaktive Pregnenolon, oder aus dem Corticoidstoffwechsel der Nebennierenrinde über das Dehydro-isoandrosteron (Δ 5- 3β -ol-17-on Andosten, syn. Dehydroepiandrosteron) gebildet werden.

In beiden Fällen kommt der 3β HSD eine entscheidende Bedeutung zu. Durch die Reduktion der OH-Gruppe am C₃-Atom zu einer Ketogruppe, entstehen unter Verschiebung der Doppelbindung Δ 5 zu Δ 4 einmal das biologisch aktive Progesteron, das weiter über 17 α -Hydroxyprogesteron zum Androstenedion (Δ 4-Androstene 3,17-dion) umgebaut wird, das zum anderen aus dem Dehydro-iso-androsteron (Δ 5- 3β -ol-17-on Andosten) ebenfalls gebildet werden kann. Auf zwei Wegen, von der Leber und von der Nebennierenrinde her, wird durch die Einwirkung der 3β HSD die intermediäre Grundsubstanz aller Sexagene gebildet. Das Androstenedion ist einmal in enger Wechselbeziehung zum Testosteron, welches über das Δ 1,4-Androstendien 17 β -ol-3-on in Oestradiol umgewandelt wird, aber auch unter Umgehung dieser Zwischenstufen direkt in ein Oestrogen überführt werden kann. Wattenberg (1958) gelang es in einer spezifischen histochemischen Reaktion die 3β HSD gegen andere Gewebshydrogenasen wie z. B. Diphosphorpyridinnucleotid-

Diaphorase (DPN-Diaphorase), und Malic-Dehydrase abzugrenzen. Der Nachweis beruht darauf, daß die 3 β HSD Wasserstoff (H) aus der am C₃-Atom angelagerten OH-Gruppe der Donatoren Pregnenolon und Dehydro-iso-androsteron abspaltet und an entsprechende Akzeptoren anlagert. Die Donatoren werden dabei zu Ketonen bzw. Ketogruppen oxydiert, die Akzeptoren durch Anlagerungen von Wasserstoff reduziert.



Im natürlichen System sind diese Vorgänge in der Regel reversibel. Das Enzym dient lediglich als Katalysator. Beim histochemischen Nachweis bedient man sich als Akzeptoren verschiedener Farbstoffe, welche als farblose (Leuko-) Verbindungen den Reaktionsgemischen zugesetzt werden und nach der Reduktion gefärbte Farbstoffniederschläge bilden. Für den Nachweis der Dehydrogenasen haben sich verschiedene Verbindungen des Tetrazoliumchlorids bewährt, welche nach Reduktion unlösliche gefärbte Formazane bilden

II. Literatur

Die Bedeutung der Hypophyse und ihrer tropen Hormone für die Synthese der Sexogene ist schon lange bekannt. Brady konnte 1951 nachweisen, daß die Biosynthese des Testosteron in inkubierten Testesschnitten von Mensch, Pferd und Kaninchen durch Zusatz von Choriongonatropin stark stimuliert wird. Samuels und Helmreich (1956) fanden bei hypophysektomierten männlichen Ratten nach einem vorübergehenden kurzen Anstieg der 3β HSD-Aktivität einen rapiden Abfall, der sich im Verlaufe von 58 Tagen auf 22 % der Normalwerte einspielt. Sie konnten dabei einen direkten Zusammenhang mit der Atrophie der Leydigischen Zwischenzellen feststellen. Mit Zugabe von Choriongonatropin wurde die Regression der Leydigischen Zellen aufgehoben, und damit stieg die Enzymaktivität auf das Doppelte der Normalwerte an. Die Autoren schließen daraus, daß die Einwirkung der Hypophyse auf die Produktion der 3β HSD keine direkte, sondern über die Zwischenzellen eine „adaptive“ ist. Die Wirkung des Choriongonadotropins bringt mithin keine Aktivierung des vorhandenen Enzymsystems, sondern vielmehr eine vermehrte Enzymsynthese.

Fuhrmann (1961) kommt bei der Untersuchung von hypophysektomierten weiblichen Ratten zu dem gleichen Ergebnis. Als Orte der Enzymsynthese werden hier atretische Follikel, Luteingewebe, Teca folliculi und Corpora lutea angegeben.

Rubin u. Mit. (1969) weisen darauf hin, daß für die Verbreitung der Bildungsstätten der 3β HSD innerhalb des Ovars artspezifische Unterschiede bestehen. Bei der Ratte und anderen Nagern beobachtet man die Hauptaktivität der 3β HSD in der Theca interna der Follikel in allen Luteingeweben und in den interstitiellen Elementen, welche ihren Ausgang von atretischen Follikeln nehmen. Beim Menschen dagegen läßt sich im Theca-Luteingewebe nur wenig Aktivität nachweisen, während diese im Granulosa-Luteingewebe am stärksten ist. Beim Kaninchen wiederum prominieren die Theca-Luteinzellen der Follikel und die Interstitiellen Gewebe.

Bayler, Schad und Arnold (1956) konnten den gleichen Effekt an Rattenhoden durch subkutane Gaben von Diäthylstilböstrol und 17β -Oestradiol erreichen.

Mittels der von Wattenberg (1958) entwickelten histochemischen Reaktion untersuchte Taylor (1961) die Ovarien von infantilen, erwachsenen und trächtigen, sowie mit Choriongonadotropin behandelten Ratten. Er fand

- 1) bei infantilen, unbehandelten Ratten stark positive Reaktionen, welche mit der Geschlechtsreife nur noch schwach ausgeprägt waren.
- 2) Mit Choriongonadotropin vorbehandelte juvenile Tiere zeigten im Vergleich mit unbehandelten Tieren eine doppelt so starke Reaktion.
- 3) Bei unbehandelten, adulten Tieren hält sich die Reaktion während aller Zyklusphasen in mittleren Bereichen um
- 4) während der Trächtigkeit leicht anzusteigen.
- 5) Bei hypophysektomierten Weibchen ist die Reaktion immer negativ und steigt nach Choriongonadotropingaben mittelgradig an.

Rubin u. Mit. (1969) haben in umfangreichen Untersuchungen den Einfluß verschiedener Hormone, sowohl der übergeordneten gonadotropen Hormone, als auch der Sexualhormone, auf die 3β HSD-Aktivität in den Ovarien dargestellt. Gaben von FSH, LH und Oestrogenen beantwortet der Körper mit zunehmender 3β HSD-Aktivität an den artspezifischen Bildungsstätten im Ovar. Die durch Hormongaben induzierte Gewichtszunahme der Ovarien ist der Fermentaktivität proportional. Die Verfasser konnten hierbei eine weitere interspezifische Reaktionseigentümlichkeit aufdecken. Während beim Kaninchen bereits nach einer Stunde nach Verabreichung von FSH oder LH ein signifikanter Anstieg der 3β HSD-Aktivität zu beobachten ist, fehlt dieser bei der Ratte. Dieser Unterschied besteht jedoch nur beim „acute effect“, nicht jedoch bei Langzeitgaben oder alternierenden Gaben von FSH und LH.

Besonders bemerkenswert sind die Versuche mit Progesteron. Mit steigenden Progesteron-Dosen nimmt die 3β HSD-Aktivität ab, um schließlich völlig zu verschwinden.

Durch zahlreiche experimentelle Befunde zur Klärung des Wirkungsmechanismus der zytoplasmatischen Therapie angeregt, äußerte Theurer die Vermutung, daß durch nach einem besonderen Verfahren hergestellte Organdilutionen spe-

zifische Wirkungen, nicht durch morphologisch und strukturell erhaltene Zellen, sondern durch Moleküle von Zellbestandteilen, insbesondere Nukleinsäuren, Nukleoproteide, Lipoproteide und Polysaccharide ausgelöst würden.

Nach einem von ihm entwickelten Verfahren werden seither Trockensubstanzen und Dilutionen aus Organen von Tieren hergestellt, deren Anwendung unter dem Begriff „zytoplasmatische Therapie“ Eingang in die Medizin fand. Von frisch geschlachteten Tieren oder Tierföten werden die Organe entnommen, von unspezifischen Geweben freipräpariert und dann sofort in flüssigem Stickstoff (-196°C) eingelegt, so daß autolytische Vorgänge weitgehend verhindert werden. Nach mechanischer Zerkleinerung der kältekonservierten Organe und anschließender Vakuumhydrolyse werden unter Ausschluß von Sauerstoff durch Veränderung der Temperatur und des Vakuums dann partielle autolytische Vorgänge eingeleitet, die unter anderem auch korpuskuläre Bestandteile wie Zellkerne, Mitochondrien und Mikrosomen in ihre molekularen Bestandteile zerlegen. Das so gewonnene Material wird durch Gefriertrocknung konserviert und findet dann unter dem Begriff „zytoplasmatische Substanz“ in der Therapie Anwendung. (Schachtel 1968).

Nach allen gemachten Beobachtungen wird die Synthese der $3\beta\text{HSD}$ durch das Hypophysensystem über die tropen Hormone stimuliert und durch die Sexadene gehemmt. In den folgenden Untersuchungen sollen die Wirkungen von bestimmten Organdilutionen auf die Aktivität der $3\beta\text{HSD}$ mit den bekannten Wirkungen von Hormonen verglichen werden.

III. Material und Methode

Zu den Versuchen wurden 34 weibliche Ratten vom Stamm Sprague-Dawley verwendet. Die Tiere waren etwa 4 Monate alt und 250 bis 300 Gramm schwer. Sie wurden in Plastikkäfigen (30x50x18 cm) gehalten, die mit einem Drahtgeflecht überdacht waren. Ernährt wurden die Ratten mit Pellets und Wasser. Die Raumtemperatur wurde auf 18 Grad Celsius gehalten. Die Einstreu für die Tiere bestand aus Sägespänen, die alle 2 Tage erneuert wurden.

Kontrollgruppe (Gruppe A): 10 Tiere erhielten am 1., 3., 5., 7., 9. und 11. Tag je 0,5 ml des Lösungsmittels der Organdilutionen (Lauryl-Natriumsulfat) subkutan injiziert. Jeweils am 13., 15., 19., 22., 29. und 35 Tag nach Versuchsbeginn wurde je ein Tier getötet und dessen Ovarien nach der unten im einzelnen noch zu beschreibenden Methode histochemisch untersucht.

FSH-Gruppe (Gruppe B): 6 Tiere erhielten am 1., 3., 5., 7., 9. und am 11. Tag je 0,5 ml „Equoman“ (CELA-GmbH, Ingelheim/Rhein) = 50 I. E. PMS subkutan injiziert.

Progesteron-Gruppe (Gruppe C): 6 Tiere erhielten in denselben Intervallen jeweils 0,2 ml „Progestin“ (Firma ORGANON GmbH) = 5 mg Progesteron verabreicht.

Dil. 22-Gruppe (Gruppe D): 6 Tiere erhielten am 1., 3. und 5. Tag je 0,5 ml Organdilutionen aus Schweinehypophyse (VITORGAN, Stuttgart), in einer Verdünnung von 10^{-12} g Trockensubstanz/ml subkutan injiziert, am 7. und 9. Tag die gleiche Menge in einer Verdünnung von 10^{-9} g/ml und am 11. Tag 0,5 ml einer Verdünnung von 10^{-6} g/ml.

Dil. 17-Gruppe (Gruppe E): 6 Tiere erhielten in der selben Versuchsanordnung wie Gruppe D eine Organdilution aus Ovargewebe vom Rind (VITORGAN, Stuttgart)

Von den Tieren der Gruppen B, C, D und E wurden am 13., 18. und 23. Tage nach Versuchsbeginn jeweils 2 Tiere jeder Gruppe getötet. Sofort nach der Tötung wurden die Ovarien entnommen, auf dem Objekttisch eines Kyrstats (System: Dittes-Duspiva, Heidelberg) mit Kohlensäure festgefroren und in 7 μ dicke Schnitte zerlegt. Nach den ersten 100 Schnitten, die verworfen wurden, wurde im Fortgang jeder 50. Schnitt für die Färbung vorbereitet. Die so gewonnenen 10 Schnitte eines jeden Ovars wurden nach der von Wattenberg entwickelten Methode weiterbehandelt:

1. Auftauen der Schnitte auf dem Objektträger.
2. 5 Minuten Trocknen der Schnitte bei Zimmertemperatur.
3. Einlegung der Schnitte für 10 Minuten in modifizierte Krebslösung bei 4° Celsius.
4. 5 Minuten Einlegung der Schnitte in modifizierte Krebslösung bei Zimmertemperatur.

5. 30 Minuten Fettextraktion in Aceton bei -18° Celsius.

6. 10 Minuten Trocknung bei -18° Celsius.

7. 30 Minuten Bebrütung in Reaktionslösung bei 38° Celsius.

Die Reaktionslösung enthält:

a) Dehydroepiandrosteron (10mM in Aceton) 0,5 ml

b) DPN (1,3mM in modif. Krebslösung; pH 8,0) 7,5 ml

Modifizierte Krebslösung:

NaCl 0,21 M - 1000 ml

KCl 0,21 M - 40 ml

MgSO₄·7H₂O 0,21 M - 10 ml

Phosphatpuffer 0,21 M - 360 ml

c) Nicotinamid (40mM in dest. H₂O) 1,0 ml

d) Neotetrazoliumchlorid (6 mg/ml in dest. H₂O) 1,0 ml

8. 5 Minuten Einlegung der Schnitte in modifizierte Krebslösung bei Zimmertemperatur.

9. 10 Minuten Fixierung der Schnitte in 10 % neutraler Formalinlösung.

10. Trocknung der Schnitte an der Luft.

11. Konservierung der Schnitte mit Glycerin.

Die niedergeschlagenen Formazanmengen wurden mit einem Integrationsokular (nach Zeiss) quantitativ erfaßt, um so den Aktivitätsgrad der 3β HSD zu bestimmen. Das Integrationsokular hat 25 Linienkreuze; jeder unter einem Linienkreuz liegende Formazanniederschlag wurde als Treffer gewertet. In jedem Schnitt wurde in 50 verschiedenen Sichtfeldern die Trefferanzahl ermittelt, deren Summe als Maßeinheit für die Aktivität der 3β HSD gewählt wurde. Die statistische Analyse der Ergebnisse wurde nach der Methode von Wadsworth und Bryan (1960) durchgeführt.

Tag p. inj.	Kontrolle n = 20	FSH n = 28	Progesteron n = 31	Dil. 22 n = 36	Dil. 17 n = 33
13.	118,0 $\pm$ 31,5	361,9 $\pm$ 24,2 xx	37,1 $\pm$ 14,5 n. s.	324,7 $\pm$ 19,1 xx	424,9 $\pm$ 18,3 xx
18.	72,6 $\pm$ 27,3	250,0 $\pm$ 17,8 x	49,7 $\pm$ 14,5 n. s.	224,8 $\pm$ 23,1 x	321,8 $\pm$ 16,9 xx
23.	66,3 $\pm$ 11,6	175,5 $\pm$ 19,0 x	62,4 $\pm$ 17,5 n. s.	162,7 $\pm$ 27,2 n. s.	247,0 $\pm$ 20,5 xx

xx = $P < 0,001$; **x** = $P < 0,05$; n. s. = nicht signifikant; Student's t-Test

Ergebnisse der Messungen der β -ol-Steroiddehydrogenase-Aktivität in Rattenovarien nach Vorbehandlung mit FSH, Progesteron, Hypophysen- und Ovardilutionen.

Mittelwerte der Formazan-Niederschläge (siehe Methode) $\pm$ Standardabweichung.

IV. Ergebnisse und Diskussion

Die Mittelwerte mit Standardabweichung der 5 Versuchsgruppen sind in der Tabelle zusammengefaßt. Bei der Kontrollgruppe A ergab die Auswertung der 3 β HSD-Aktivität einen Durchschnittswert, der in relativ geringen Grenzen schwankt.

In der mit FSH behandelten Gruppe B kam es nach Absetzen der Injektionen (11. Tag) am 13. Tag zu einem eindeutigen Anstieg der Enzymaktivität um etwa das Dreifache ($P < 0,001$; Tab.). Am 18. Versuchstag, also 7 Tage nach der letzten PMS-Injektion, war die Aktivität der 3 β HSD bereits wieder geringer ($P < 0,05$), erreichte jedoch am 23. Tag noch nicht wieder die Kontrollwerte (Unterschied zur Kontrolle nicht signifikant; Tab.). Die beachtliche Aktivierung der 3 β HSD durch das FSH deckt sich mit den von Rubin et al. (1969) gemachten Beobachtungen. Der Anstieg der Fermentaktivität in den Rattenovarien durch Gaben von Ovardilutinen auf nahezu den 4-fachen Normalwert läßt darauf schließen, daß hier eventuell eine Gonadotropinwirkung sich mit der Wirkung einer unbekannten Substanz addiert. Keinesfalls scheint in dieser Organ-Dilution Progesteron enthalten zu sein, da sonst, wie aus den Werten der Gruppe B zu ersehen ist, eine Hemmung der Aktivität erwartet werden müßte. Da die Werte der FSH-Gruppe und der Dil. 22-Gruppe keinen signifikanten Unterschied zeigen, kann nicht ausgeschlossen werden, daß die Steigerung der Enzymaktivität nach Gaben der Dil. 22 durch gonadotrope Hormone in den Organdilutionen zustande kommt.

Bei den Tieren, die Progesteroninjektionen erhalten hatten (Gruppe C) kam es am 13. Tag zu einer nicht signifikanten Hemmung der Enzymaktivität. Am 23. Tag waren die 3 β HSD-Werte wieder den Kontrollwerten gleich. Das beobachtete Absinken der Fermentaktivität deckt sich mit den Ergebnissen von Rubin u. Mitarb. (1969). Sie konnten zeigen, daß mit steigenden Progesterondosen in Rattenovarien, die 3 β HSD-Aktivität proportional absinkt und schließlich völlig zum Erliegen kommt. Die relativ kurze Wirkungsdauer des Progesterons dürfte in der eigenen Versuchsanordnung auf die kurze Halbwertszeit dieses Steroidhormones zurückzuführen sein.

In der Gruppe D hatten die Ratten Organdilutionen aus Hypophysengewebe erhalten. Hier war eine Steigerung der Enzymaktivität wie in der FSH-Gruppe (B) zu beobachten. Die Werte der Enzymaktivität unterscheiden sich von denen der Kontrollgruppe am 13. Tag ($P < 0,001$) und am 18. Tag ($P < 0,05$) signifikant, am 23. Tag jedoch nicht mehr. Die Werte dieser Gruppe D unterscheiden sich jedoch nicht von denen der Gruppe B. Diese Ergebnisse lassen die Vermutung zu, daß die Aktivitätssteigerung der 3β HSD nach Injektion von Dilutionen aus Hypophysengewebe eventuell auf das Vorkommen von FSH in dieser Praeparation zurückzuführen ist.

Anders liegen die Verhältnisse in der Versuchsgruppe E, in der die Tiere Organdilutionen aus Ovargewebe erhalten hatten. Hier kam es am 13. Tag zu einer — verglichen mit den Kontrollwerten — fast 4-fachen Steigerung der Enzymaktivität ($P < 0,001$). Obgleich die Aktivitäts-Werte der 3β HSD am 18. und 23. Tag geringer wurden, waren sie doch bis zu diesem Zeitpunkt noch signifikant höher als die der Kontrollgruppe ($P < 0,001$). Die Werte dieser Gruppe E waren außerdem von denen der Gruppe D ($P < 0,001$) und denen der Gruppe B ($P < 0,05$) am 13. Tag verschieden.

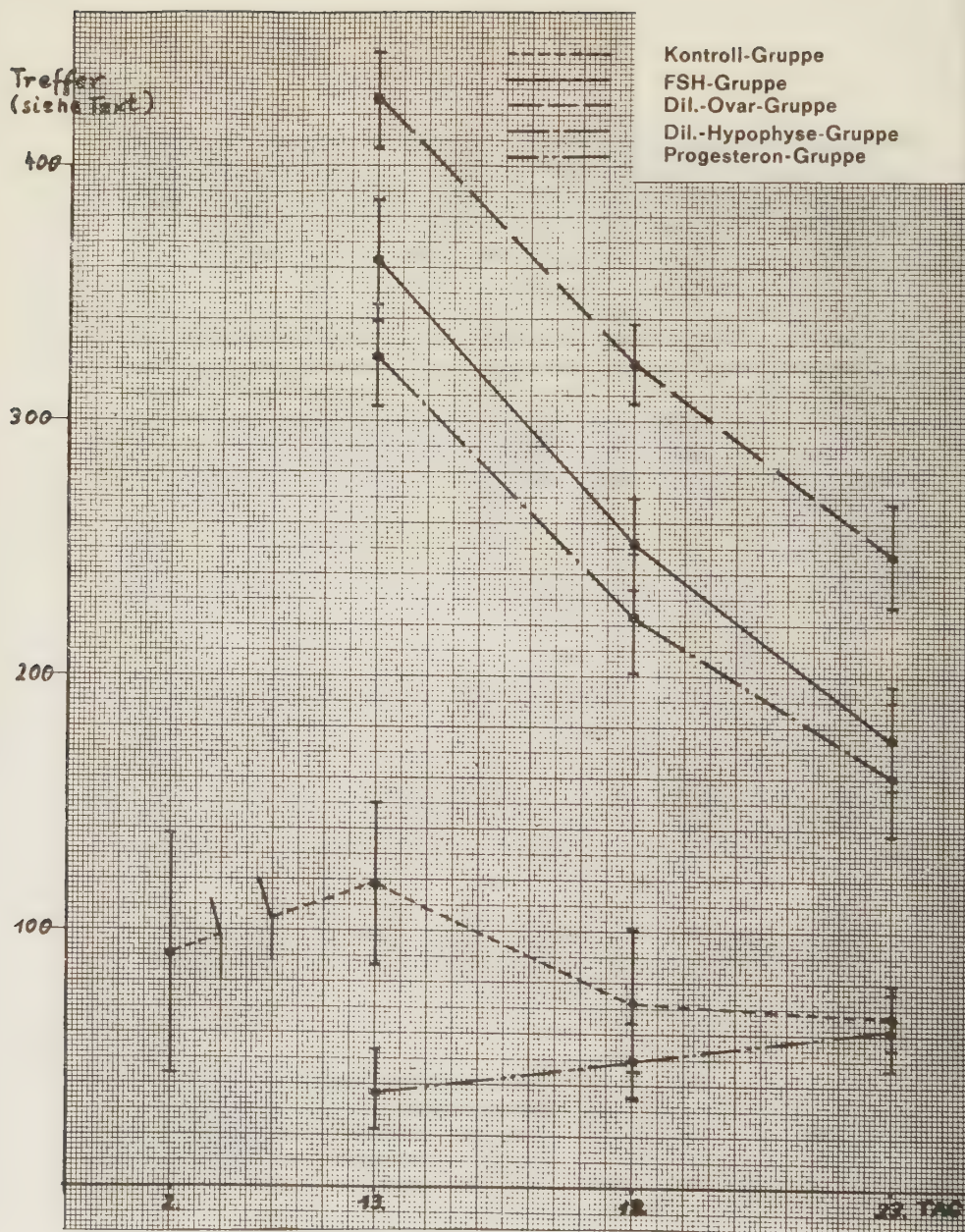
Da die Unterschiede zwischen der FSH-Gruppe : Dil. 17-Gruppe signifikant sind, darf angenommen werden, daß die Steigerung der Enzymaktivität durch Gaben der Dilution 17 nur eine eventuelle FSH-Wirkung darstellt. Wahrscheinlich kommt diese Aktivitätssteigerung durch ein unbekanntes, die 3β HSD-Synthese spezifisch aktivierendes Agens in der Ovardilution zustande. Diese Annahme wird auch dadurch untermauert, daß der Unterschied zwischen Dil. 17 und Dil. 22 signifikant ist. Über die Art dieser die 3β HSD-Aktivität stimulierenden Substanz kann vorerst keine Aussage gemacht werden.

Die Versuche haben gezeigt, daß Organdilutionen aus Hypophysengewebe eine ähnliche Wirkung auf die 3β HSD-Synthese haben, wie sie von früheren Untersuchern für die gonadotropen Hormone nachgewiesen werden konnten.

Trotz der hohen Verdünnung der Dilutionen von 10^{-12} g bis 10^{-9} g Trockensubstanz/ml konnten in den Rattenovarien Aktivitätssteigerungen der 3β HSD erzielt werden, die denen der durch gonadotrope Hormone hervorgerufenen an Intensität durchaus vergleichbar sind.

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß durch die eigenen Versuche die von Fuhrmann (1961) beschriebene Wirkung der gonadotropen Hormone auf die Ovarien im Sinne einer verstärkten Enzymsynthese reproduziert werden konnte. Die Versuchsergebnisse stehen weiterhin im vollen Einklang mit den Beobachtungen von Rubin u. Mitarb. (1969) sowohl im Hinblick auf die gonadotropen Hormone, als auch auf das Progesteron.

Überraschend ist die Wirkung der so stark verdünnten Organdilutionen. Wie oben dargelegt wurde, ist eine hormonale Wirkung bei der Dil. 22-Gruppe nicht auszuschließen. Berücksichtigt man aber die Angaben vieler Forscher, die eine wirksame Hormonmenge in Organdilutionen als unwahrscheinlich ablehnen, so liegt der Schluß nahe, daß die Organdilutionen eventuell auch organspezifische Aktivatoren oder Inhibitoren enthalten, die direkt in die Fermentsynthese eingreifen.



Beeinflussung der 3β -ol-Steroid-Dehydrogenase im Ovar der Ratte nach Injektionen von PMS, Progesteron und Dilutionen aus Rinderovarien und Schweinehypophysen. Mittelwerte $\pm$ Standard-Abweichung.

V. Zusammenfassung

Weiblichen weißen Ratten wurden in 5 verschiedenen Versuchsreihen in zweitägigen Intervallen jeweils FSH, Progesteron, Organdilutionen aus Hypophysen- und aus Ovargewebe verabreicht. Am 13., 18. und 23. Tag wurden jeweils 2 Tiere getötet, die Ovarien entnommen und in ihnen die 3β HSD-Aktivität mittels der von Wattenberg entwickelten histochemischen Methode an Gefrierschnitten ermittelt.

Nach der Vorbehandlung mit FSH und Organdilution aus Hypophysengewebe kam es am 13. Tag zu einer signifikanten Aktivitätssteigerung der 3β HSD um das Dreifache.

Die Vorbehandlung mit Organdilution aus Ovargewebe bedingte die größte, signifikante Aktivitätssteigerung der 3β HSD in den Rattenovarien. Progesteron hemmte die Enzymsynthese.

VI. Summary

Five groups of female Sprague-Damley rats were injected in two day intervals (day 1 to 11) with PMS, progesterone and solutions from pituitary tissue and ovarian tissue. The fifth group served as the control.

Two animals from each group were sacrificed on day 13, 18 and 23 respectively. After removing the ovaries the activity of the 3 β -ol-steroiddehydrogenase (3 β HSD) was analysed histochemically (method described by Wattenberg).

The treatment with PMS and solution from pituitary tissue both resulted in an increased activity of the 3 β HSD to values about three times higher than in the control. The treatment with solution from ovarian tissue showed the highest increase in enzym activity ($P < 0.001$); progesterone decreased the activity of the 3 β HSD.

VII. Literaturverzeichnis

1. Beyler A.L., Schad J.S., Arnold A.
Stimulatory effect of estrogen pretreatment on 3β -hydroxy-steroid-dehydrogenase activity of the rat testicular tissue.
Proc.Soc.exp.Biol. **92**, 656 (1956)
2. Brady R.O.
Zitiert nach Lange K., Der intermediäre Stoffwechsel, Berlin-Göttingen-Heidelberg, Springer, (1952)
3. Ercoli A.
Über die biologische Umwandlung von Androsten- zu Androstan-Derivaten.
Z.Physiol.Chemie. **270**, 266 (1941)
4. Fuhrmann K.
Verhalten der 3β -ol, 11β -ol, 17β -ol-Steroid-Dehydrogenase im Ovar nach Gonadotropinbehandlung u. Hypophysektomie.
III. Weltkongr. Intern. Federation f. Gynäk. und Geburtshilfe Wien (1961)
5. Ikonen M., Niemi M., Pesonen S. und Timonen S.
Histochemical localisation of 4 Dehydrogenase systems in human ovary during the menstrual cycle.
Acta endocrin. Coh. **38**, 293 (1961)
6. Jung A. u. König P.A.
Enzyme des Ovariums, S. Karger Basel — New York (1965)
7. Levy H., Deane H.W., Rubin B.L.
Visualisation of steroid- 3β -ol-DH-activity in tissue of intact and hypophysectomized rats.
Endocrinology **65**, 932 (1959)
8. Mamoli L.
Über biochemische Dehydrierungen in der Cortingruppe.
Ber.dtsch.chem.Ges. **72**, 1863 (1939)
9. Marcus Ph. u. Talalay P.
Induction and purification of 3β -Hydroxysteroiddehydrogenase
J. biol.Chem. **218**, 112 (1956)

10. Rubin, B.L., Deana, H.W. and Balogh, K.
Ovarian steroid biosynthesis and 5- β - and 20 α -hydroxysteroid dehydrogenase activities
Trans.N.Y.Acad.Sci. **31**, 787 (1969)
11. Rüsse M. u. van de Witt U.
Über Vorkommen und Bedeutung der 3 β -ol-Steroiddehydrogenase im normalen und zystös entarteten Ovar des Rindes,
Zuchthygiene **1**, 117 (1966)
12. Samuels LT. u. Helmreich M.L.
The influence of the chronic gonadotropin in the 3 β -ol-DH-activity of testes and adrenal.
Endocrinology **58**, 435 (1968)
13. Schachtel E.
Über eine Wirkung zytoplasmatischer Substanzen im in vitro-Versuch,
Vet. Diss. München (1968)
14. Taylor F.B.
Histochemical changes in the ovaries of the normal and experimentally treated rats.
Acta endocrin. Cbh. **36**, 361 (1961)
15. Wadsworth G.P. and Bryan J.S.
Introduction to Probability and Random variables.
Mc Graw-Hill, New York (1960)
16. Wattenberg L.W.
Microscopic histochemical demonstrations of the steroid-3 β -ol-DH in tissue sections.
J. Histochem.Cytochem. **6**, 225 (1958)
17. Zabin I. u. Bloch K.
The utilization of isovalerianic acid for the synthesis of cholesterol.
J. biol.Chem. **185**, 131 (1950)

Lebenslauf

Am 1. August 1940 wurde ich, Wolfgang Kleinle, als ältester Sohn des Facharztes Dr. J. Kleinle und seiner Ehefrau Lilly in Regensburg geboren. Nach dem Besuch der Volksschule und des humanistischen Gymnasiums bestand ich im Juli 1961 in Neuburg/Donau das Abitur.

Vom Wintersemester 1961 bis 1966 studierte ich an der Ludwig-Maximilian-Universität München Tiermedizin und bestand am 20. Oktober 1966 das tierärztliche Examen. Die Approbation erhielt ich am 1. Juli 1967.

Nach zweijähriger Praktikanten- und Assistententätigkeit habe ich mich am 1. Juni 1969 in Griesbach i. Rottal als praktischer Tierarzt niedergelassen.

